

507, 452

(12) 依照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



Rec'd PCT/PTO 13 SEP 2004

(43) 国际公布日:

2003年9月18日(18.09.2003)

PCT

(10) 国际公布

WO 03/076490 A1

10/507452

(51) 国际分类号: C08G 65/00

(21) 国际申请号: PCT/CN03/00179

(22) 国际申请日: 2003年3月12日(12.03.2003)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
PCT/CN02/00147 2002年3月13日(13.03.2002)  
CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 北京键凯科技有限公司(BEIJING JIANKAI TECHNOLOGY CO., LTD.) [CN/CN]; 中国北京市海淀区上地信息路2号国际科技创业园C栋四层, Beijing 100085 (CN)。

(72) 发明人; 及  
(75) 发明人/申请人(仅对美国): 嵇世山(JI, Shishan) [CN/CN]; 朱德权(ZHU, Dequan) [CN/CN]; 中国北京市清华大学毕业大厦1209房间, Beijing 100084 (CN)。

(74) 代理人: 永新专利商标代理有限公司北京办事处(NTD PATENT & TRADEMARK AGENCY LTD.,

BEIJING OFFICE); 中国北京市金融大街27号投资广场A座10层, Beijing 100032 (CN)。

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:  
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: HYDROPHILIC POLYMER DERIVATE WITH Y TYPE BRANCH AND PREPARATION METHOD OF IT MEDICAL COMPOSITE COMPRISING ABOVE COMPOUND

(54) 发明名称: 具有Y形分支的亲水性聚合物衍生物、其制备方法、与药物分子的结合物以及包含该结合物的药物组合物

(57) Abstract: The present invention relates to a kind of polyethylene glycol derivate with Y type branch represented by formula (I)-(IV). The present invention also relates to compound with medicines medical composite comprising above compound.

(57) 摘要

本发明涉及一种由式 (I) - (IV) 表示的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物。本发明还涉及该衍生物与药物分子形成的结合物以及包含该结合物的药物组合物。



WO 03/076490 A1

## 具有 Y 形分支的亲水性聚合物衍生物、其制备方法、 与药物分子的结合物以及包含该结合物的药物组合物

### 技术领域

本发明涉及具有 Y 形分支的亲水性聚合物衍生物、其制备方法以及药物分子的结合物，所述药物分子特别是蛋白质和多肽等大分子。本发明还涉及包含所述结合物的药物组合物。

### 背景技术

各种天然和重组的蛋白质和多肽都具有一定的医药可用性。对其纯化、分离后的各种制品，即可通过非经胃肠道途径给药来用于各种治疗适应症。然而，非经胃肠道途径给药的蛋白质可能具有免疫原性，也可能是相对不溶于水的，也可能具有很短的药理学半衰期。因此，如何提高并保持这些药物分子在患者体内的有效血药浓度，具有非常显著的实际意义。

同样，除蛋白质外的各种天然药物成分如黄酮类、萜类、醌类、甾体以及各种生物碱，在临床上也有对其性能作进一步改进的要求，如提高药物的药理学半衰期、增强其稳定性及到达靶部位的几率、提高水溶性、改变给药途径以及改善生物利用度等。

目前，聚乙二醇衍生物广泛地用于与蛋白质、多肽以及其他治疗药物结合以延长所述药物的生理半衰期，降低其免疫原性和毒性。在临床使用中，PEG 及其衍生物作为制作药物制剂的载体已经在很多商业药品中得到了广泛的应用，而将 PEG 键合到药物分子的尝试在最近十年里也得到了长足的发展，在许多批准药品中被广泛使用，如 PEG-intron<sup>®</sup>，其是一种 $\alpha$ -干扰素与聚乙二醇的结合物就表现出了更长的循环半衰期和更好的治疗效果。紫杉醇与聚乙二醇的结合物也相应的降低了毒性和延长了生物活性。它们在人体内的代谢过程

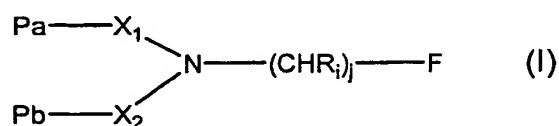
已相当清楚，是一种安全的，无副作用的药物改性剂。

在与药物结合时，常用到一种被称为聚乙二醇化(PEGylation)的工艺，即聚乙二醇两端的一个或二个端基被化学活化后具有一适当的官能团，此官能团对要结合的药物中的至少一个官能团具有活性，能与之形成稳定的键。

许多 PEG 的衍生物已被报道，例如第 5672662 号美国专利报道了线性 PEG 丙酸和丁酸以及它们的 NHS 酯。最近，在第 5643575 号美国专利中披露了一种 U 形分支的聚乙二醇结构。在这种新的聚乙二醇衍生物中两个线性的聚乙二醇组分通过两个相同的官能团比如两个氨基或两个羧基连接在一个分子或一种结构上。在此专利的一个实施例中，发明人指出带分支的 PEG 是由线性的 PEG 与赖氨酸制得的，而赖氨酸是一种带有两个氨基的氨基酸。

## 发明内容

本发明提供一种新型的具有 Y 形分支的亲水性聚合物衍生物，其用分子式 I 来表示：



其中：

$\text{P}_a$  和  $\text{P}_b$  是相同或不同的亲水性聚合物；

$j$  为 1-12 的整数；

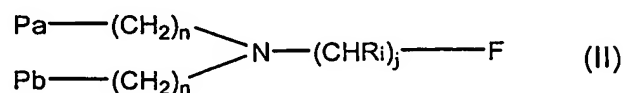
$\text{R}_i$  为 H、 $\text{C}_{1-12}$  经取代或未经取代的烷基、取代芳基、芳烷基、或杂烷基；

$\text{X}_1$  和  $\text{X}_2$  分别独立地是连接基团，其中  $\text{X}_1$  为  $(\text{CH}_2)_n$ ， $\text{X}_2$  为选自于以下组中的基团： $(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{OCO}$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{NHCO}$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{CO}$ ，而  $n$  为 1-10 的整数；

$\text{F}$  是选自于以下组中的端基：羟基、羧基、酯基、酰氯、酰肼、马

来酰亚胺、吡啶二硫化物，可以与治疗药物或基体上的氨基、羟基或硫羟基反应形成共价键。

根据本发明的再一个方面，提供一种由以下式 II 表示的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物：



其中：

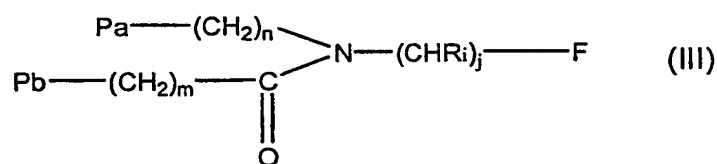
$\text{P}_a$  和  $\text{P}_b$  是相同或不同的聚乙二醇；

$n$  和  $j$  为 1-12 的整数；

$\text{R}_i$  为 H、 $\text{C}_{1-12}$  经取代或未经取代的烷基、取代芳基、芳烷基、或杂烷基；

F 是选自于以下组中的端基：羟基、羧基、酯基、酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物，可以与治疗药物或基体上的氨基、羟基或硫羟基反应形成共价键。

根据本发明的再一个方面，提供一种由以下式 III 表示的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物：



其中：

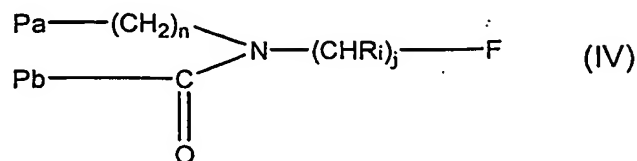
$\text{P}_a$  和  $\text{P}_b$  是相同或不同的聚乙二醇；

$n$ 、 $m$  和  $j$  为 1-12 的整数；

$\text{R}_i$  为 H、 $\text{C}_{1-12}$  经取代或未经取代的烷基、取代芳基、芳烷基、或杂烷基；

F 是选自于以下组中的端基：羟基、羧基、酯基、酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物，可以与治疗药物或基体上的氨基、羟基或硫羟基反应形成共价键。

根据本发明的再一个方面，提供一种由以下式 IV 表示的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物：



其中：

$\text{P}_a$  和  $\text{P}_b$  是相同或不同的聚乙二醇；

$n$  和  $j$  为 1-12 的整数；

$\text{R}_i$  为 H、 $\text{C}_{1-12}$  经取代或未经取代的烷基、取代芳基、芳烷基、或杂烷基；

F 是选自于以下组中的端基：羟基、羧基、酯基、酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物，可以与治疗药物或基体上的氨基、羟基或硫羟基反应形成共价键。

根据本发明的另一个方面，提供一种制备上述式 II 的聚乙二醇衍生物的方法，其包括以下步骤：在  $0^\circ\text{C}$ 、催化剂作用下，用 2-苄氧基乙胺二乙醇引发环氧乙烷的聚合反应；进行端基烷基化、催化氢化脱苄；然后根据 F 进行端基改造。

根据本发明的另一个方面，提供一种制备上述式 III 或 IV 的聚乙二醇衍生物的方法，其包括以下步骤：在碱性条件下，用聚乙二醇单甲醚-甲磺酰酯与氨基酸反应，产物与另一个聚乙二醇单甲醚衍生物进一步反应，然后再根据 F 基团的类型进行端基改造。

根据本发明的另一个方面，提供上述亲水性结合物通过 F 基团与药物分子形成的结合物。

根据本发明的再一个方面，还提供包含上述结合物的药物组合物。

## 附图说明

图 1 是 Y 形聚乙二醇衍生物 (1) 的合成图;

图 2 是 Y 形聚乙二醇衍生物 (2) 和 (7) 的合成图;

图 3 是 Y 形聚乙二醇衍生物 (5) 的合成图;

图 4 是 Y 形聚乙二醇衍生物 (6) 的合成图;

图 5 是 Y 形聚乙二醇衍生物与药物的合成图 (酯键类);

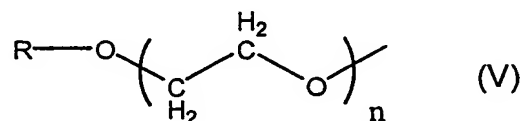
图 6 是 Y 形聚乙二醇衍生物与药物的合成图 (其它);

图 7 是 Y 形聚乙二醇衍生物与蛋白类的合成图。

## 具体实施方式

在本发明中, 所述亲水性聚合物例如是聚乙二醇、聚丙二醇、聚乙烯醇、聚丙烯吗啉或者它们的共聚物, 其中特别优选是聚乙二醇及其共聚物。

在本发明通式 II-IV 表示的聚乙二醇衍生物中,  $P_a$  和  $P_b$  可相同或不同地为以下 V 所示的聚乙二醇:



其中:

R 为 H、 $\text{C}_{1-12}$  烷基、环烷基或芳烷基;

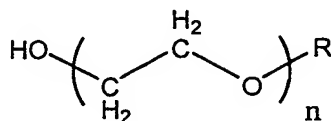
n 为任何整数, 表征其聚合度, 优选使聚乙二醇的分子量为 300 到 60000。

在上述式 V 中, R 优选为氢、甲基、乙基、异丙基、环丙基、环丁基、环己基以及苄基。

本发明中的 Y 形分支的亲水性聚合物衍生物是通过把两种线性的亲水性聚合物连接到一个小分子的同一氨基上而制得的。

以下用聚乙二醇为例, 说明本发明具有 Y 形分支的亲水性聚合物衍生物的制备方法。

聚乙二醇（PEG）的结构通式如下所示：



其中：

R 为 H、C<sub>1-12</sub> 烷基、环烷基或芳烷基；

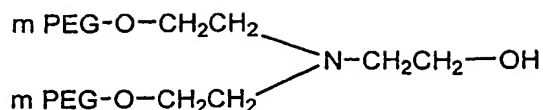
n 为任何整数，表征其聚合度。

当 R 为低级烷基时，R 可以是含有 1-6 个碳原子的任何低级烷基，如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、正戊基或正己基。当 R 为环烷基时，R 优选为含 3-7 个碳原子的环烷基，如环丙基、环丁基和环己基。优选的环烷基为环己基。其典型的化合物是甲氧基聚乙二醇（mPEG），其他聚乙二醇类似物或聚乙二醇共聚物也可用于此发明应用。

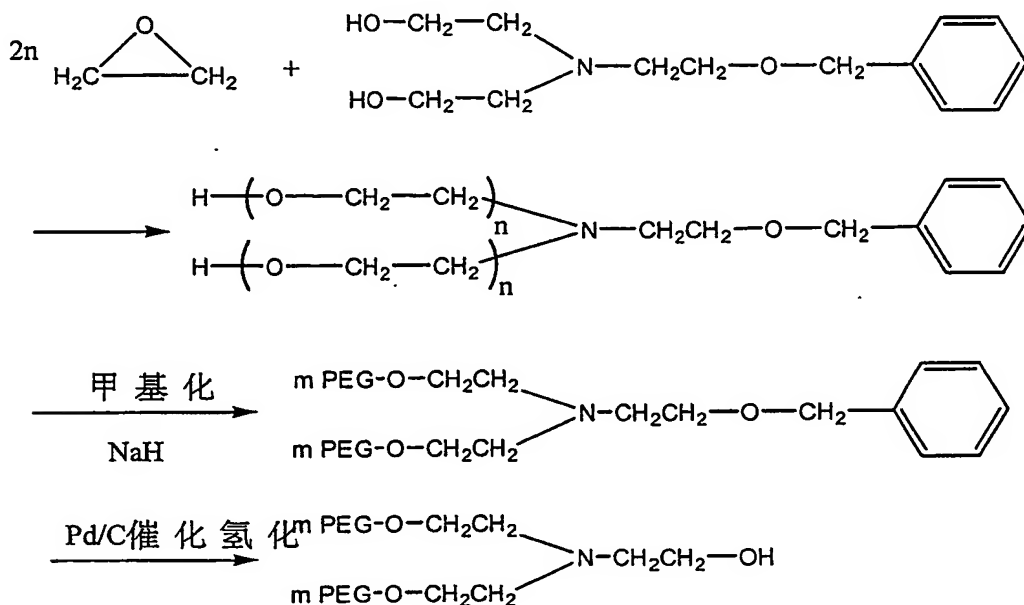
对聚乙二醇而言，一般采用分子量予以表示，只要使形成结合物的聚乙二醇的分子量为 300~60,000 道尔顿，这相当于 n 为大约 6~1300。更优选为，n 为 28、112 和 450，这分别相应于分子量为 1325、5000 和 20,000。由于通常由其平均分子量而非自重复单元限定的起始 PEG 化合物的潜在不均一性，优选用分子量表征聚乙二醇聚合物，而不是用整数 n 表示 PEG 聚合物中的自重复单元。各种分子量的起始 PEG 化合物可以通过本领域中的已知方法制备或者可以从商业来源得到。

根据本发明的 Y 形聚乙二醇衍生物可以通过在本领域中很通用的合成和制备办法得到。根据不同的权利要求的结构化合物，需要采用相应的合成和制备办法，具体情况可以参照本领域的各种技术文献资料和专利成果。

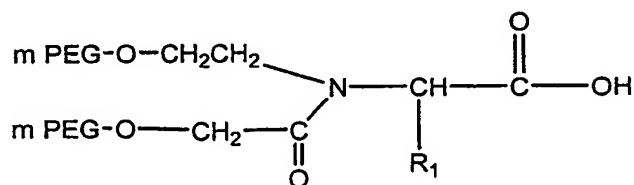
当 P<sub>a</sub> 和 P<sub>b</sub> 均为甲氧基聚乙二醇，X<sub>1</sub> 和 X<sub>2</sub> 为简单支链烷基，同时 F 为一个羟基时，其可能的一个结构式为：



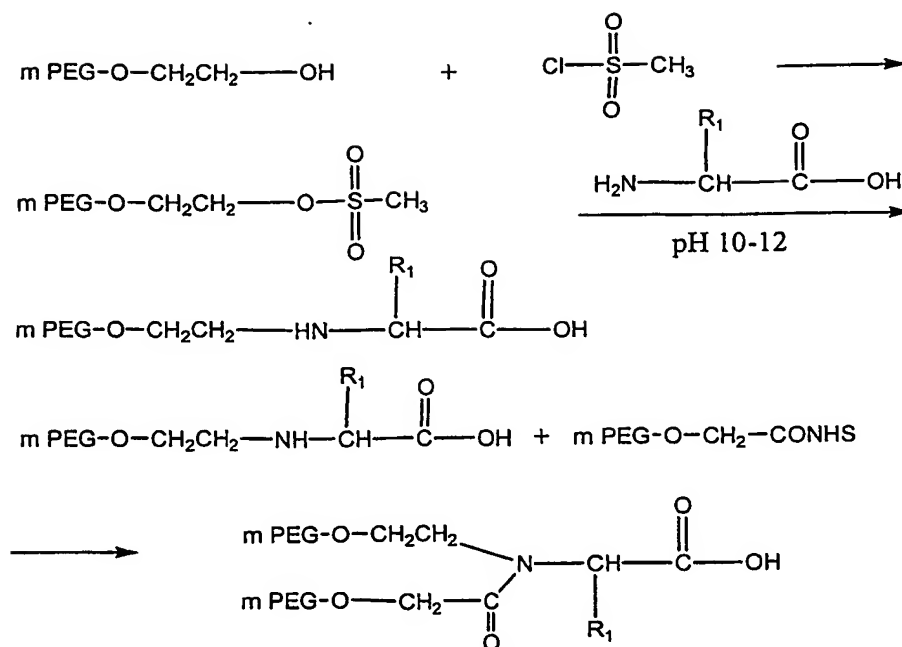
其来源可以通过制备合适的聚合引发剂，而引发环氧乙烷或乙二醇的聚合得到。比较经典的合成办法可以参考如下的合成路线，当然在本领域也可寻找到更合适或更经济的办法制备该衍生物。



当  $P_a$  和  $P_b$  均为甲氧基聚乙二醇基， $X_1$  和  $X_2$  不相同的时候，其可能的一个结构式为：



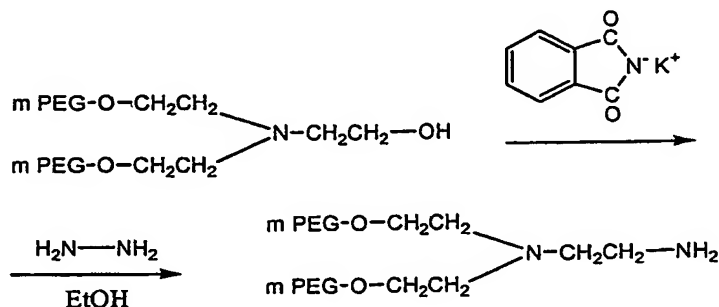
其来源可以通过对氨基的分步反应的方法得到，所选用的含氨基的化合物可以是各种氨基酸、氨基酮或其他含氨基的化合物。比较经典的合成办法可以参考如下的合成路线，当然在本领域也可寻找到更合适或更经济的办法制备该衍生物。



在根据本发明之亲水性聚合物衍生物的应用中，端基 F 起着决定性的作用，不同端基的聚合物衍生物具有不同的用途。这些功能基团的引入，将决定该衍生物的应用领域和适用结构。针对需要实现的用途，可以采用以下几种方法对端基官能团进行改性：

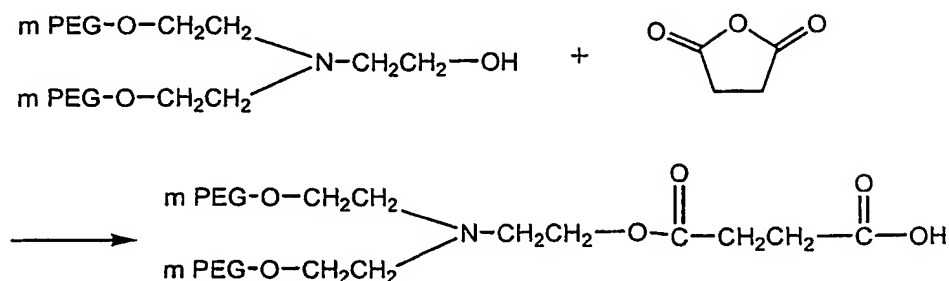
### 1、氨基化

氨基化后的聚乙二醇，由反应活性较大的氨基取代了羟基，在与一个含羧酸基的分子进行反应形成结合物中尤其重要。



## 2、羧基化

聚乙二醇羧基化后，可提高 PEG 的反应性，使 PEG 可以和另一含氨基或羟基的分子反应形成结合物。



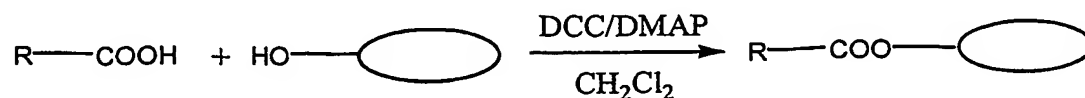
如果采用各种氨基酸作为反应原料，将同样获得含有羧基的端基官能团。特别的，如果使用酸性氨基酸或者含酸性氨基酸的聚合物，将获得含有多个活性羧基的端基官能团。此种结构将有利于提高对小分子的各种天然药物成分的负载率，并可通过分步降解获得缓释效果。

## 3、其他

同样的，也可通过酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物等方法对其进行改性，在本领域可以很容易的获得相关的合成方法。

许多药物成分中都含有活性的氨基、羧基、羟基等官能团，它们在生物体内通常都与单糖、多糖、核苷、多聚核苷、磷酸基等成分结合，以形成在生物体中有活性的药理结构。

因此官能团改进后的聚乙二醇衍生物可以通过相同的方式和这些药物分子结合，以替代生物有机分子。克服生物有机分子在生物体内生理半衰期短、药效持续时间短的毛病。一个常用的酯基合成反应模式如下所示：



酯基在生物体中可以通过降解的方式除去，而释放出活性成分。  
酰胺基在生物体内相对稳定。

本发明的 Y 形分支的亲水性聚合物衍生物使用适当的端基官能团提供和药物分子的结合物，所述的端基官能团使蛋白质、多肽或者其他天然药物中的游离氨基、羟基、硫羟基等与 PEG 衍生物连接起来。对大分子的蛋白质或多肽，可以键合上一个到多个此类 PEG 衍生物，以改善药物分子在体内的生理作用；对小分子的天然药物活性成分，可以通过适当的端基官能团在一个 PEG 衍生物中连接一个到多个药物分子，以保证适当的药物浓度和提供缓释功能。

以上各种应用领域只是对该 PEG 衍生物的医药应用提供一个可能参考的模式，具体的使用 and 选择需要根据动物药理、毒理和临床等必须的环节予以确认。

在本发明的结合物中，药物分子部分优选为由天然植物中分离的药物活性成分，如紫杉醇 (paclitaxel)、喜树碱 (Camptothecin)、华蟾酥毒基 (Cinobufagin)、甘草次酸 (Glycyrrhetic Acid) 和东莨菪内酯 (Scopoletin)。该药物分子部分特别优选是用于治疗肿瘤的天然药物成分，例如紫杉醇、喜树碱以及它们的衍生物等。药物分子部分还优选是干扰素类药物，如  $\alpha$ -和  $\beta$ -干扰素。

本发明的结合物可以纯化合物形式或适宜的药物组合物进行给药，可采用任何可接受的给药方式或用于类似用途的试剂进行。因此，采用的给药方式可选择通过口、鼻内、直肠、透皮或注射给药方式，其形式为固体、半固体、冻干粉或液体药剂形式给药，例如，片剂、栓剂、丸剂、软和硬明胶胶囊剂、散剂、溶液剂、混悬剂或气雾剂等，优选采用适用于精确剂量的简单给药的单元剂量形式。组合物可包含常规药用载体或赋形剂和作为活性成分（一种或多种）的本发明的结合物，此外，还可包含其它药剂、载体、辅剂等。

通常，根据所需给药方式，药学上可接受的组合物将包含约 1 至

约 99 重量%的本发明结合物、以及 99 至 1 重量%的适宜的药用赋形剂。优选组合物包含约 5 至 75 重量%的本发明结合物，其余为适宜的药用赋形剂。

优选的给药途径是注射给药，采用常规日剂量方案，该方案可根据疾病的严重程度进行调整。本发明的结合物或其药学上可接受的盐也可配制成注射用剂，例如使用约 0.5 至约 50%的活性成分分散于可采用液体形式给药的药用辅剂中，实例为水、盐水、含水葡萄糖、甘油、乙醇等，从而形成溶液剂或混悬剂。

可采用液体形式给药的药物组合物例如可通过溶解、分散等手段将本发明的结合物（约 0.5 至约 20%）和选择性存在的药用辅剂溶解、分散于载体中，载体的实例为水、盐水、含水葡萄糖、甘油、乙醇等，从而形成溶液剂或混悬剂。

如果需要的话，本发明的药物组合物还可包含少量的辅助物质，如润湿剂或乳化剂、pH 缓冲剂、抗氧化剂等，例如：柠檬酸、脱水山梨醇单月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯、丁基化羟基甲苯等。

该类剂型的实际制备方法是本领域的技术人员公知的或者显而易见的，例如可参见 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第 18 版, (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990)。无论如何，按照本发明的技术，所使用的组合物将含有治疗有效量的本发明结合物，以用于治疗相应的疾病。

## 实施例

下面结合实例描述本发明的结合物及其制备方法，它不限制本发明，本发明的范围由权利要求限定。

### 实施例 1

#### Y 形分支的聚乙二醇衍生物 (1) 的合成

其合成路线见图 1 所示。将 10 毫升干燥的环氧乙烷在 0℃ 下加入盛有 200 毫克 2-苄氧基乙胺二乙醇和 50 毫克干燥的氢化钠的加厚烧瓶中，搅拌下反应，缓缓升温。28 小时后将粘稠的溶液用水骤冷，用二氯甲烷萃取聚合物，有机相用无水硫酸钠干燥后在真空下蒸除溶剂。产率：8.2 克（81%），熔点：56—58℃。

5 克分子量为 10000 的  $(\text{PEG})_2\text{-N-CH}_2\text{CH}_2\text{OBz}$ （由上一步得到的）溶于 50 毫升甲苯中，向溶液中加入 0.1 克氢化钠和 0.5 克苯磺酸甲酯，在 80℃ 下加热反应 24 小时。然后用 2 毫升异丙醇使溶液骤冷，真空下蒸除溶剂，在残余物中加入 200 毫升异丙醇，过滤收集沉淀物，真空干燥。产率：4.6 克（92%），熔点：57—59℃。

将 3 克分子量为 10000 的  $(\text{MeO-PEG})_2\text{-N-(CH}_2)_2\text{-O-Bz}$ （由上一步制得的）溶于 30 毫升无水 1,4-二氧六环中，然后加入 0.1 克 Pd/C 催化剂混匀。向反应器中通入氢气（压力为 40psi），在室温下剧烈地搅拌溶液过夜，然后滤出催化剂，催化剂用新鲜的二氯甲烷洗涤。合并溶液，旋转蒸发蒸出溶剂后，向残余物中加入乙醚，过滤收集沉淀物并真空干燥。产率：2.4 克（80%）。NMR (DMSO)：3.5 (b r m, PEG 中的氢)，3.24 (s, 6 个氢)，2.63 (t, 6 个氢)。

## 实施例 2

### Y 形分支的聚乙二醇丁二酰亚胺碳酸酯（2）的合成

其合成路线见图 2 所示。将 1 克的分子量为 10000 的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物  $(\text{mPEG})_2\text{-N-CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ，由实施例 1 中制得的）和 0.1 克的丁二酰亚胺基碳酸酯溶于 20 毫升乙腈中，向溶液中加入 0.1 毫升吡啶，反应物在氮气保护下搅拌过夜，旋转蒸发蒸出溶剂，真空下干燥残余物。将固体残余物加入 10 毫升干燥的二氯甲烷中，滤出不溶物，有机相立即用醋酸盐缓冲液（0.1M, pH5.5）洗涤一次，再用无水硫酸钠干燥，然后旋转蒸发浓缩，在乙醚中沉淀，过滤收

集沉淀物并在真空下干燥。产率：0.9 克（90%）。NMR(DMSO): 3.5 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 6 个氢), 4.45 (t, 2 个氢), 2.82 (s, 4 个氢)。

### 实施例 3

#### mPEG-氨基乙酸 (3) 的合成

将 5 克分子量为 5000 的 mPEG 加入 50 毫升甲苯中，在氮气保护下共沸蒸馏 2 小时，分出 10 毫升溶剂。然后冷却至室温，加入干燥的二氯甲烷 3 毫升和 0.08 毫升干燥的三乙胺，此混合物在冰水浴中冷却并滴加 0.12 毫升干燥的甲基磺酰氯。此混合物在室温下氮气保护中搅拌过夜，然后加入 2 毫升无水乙醇使反应骤停，旋转蒸发蒸出部分溶剂，过滤收集沉淀物，再加入 150 毫升乙醚，过滤收集沉淀并真空干燥。产率：4.8 克（96%）。NMR (DMSO) : 3.5 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 3 个氢), 4.32 (t, 2 个氢)。

将 2 克氨基乙酸盐溶于 20 毫升去离子水中，用 1 克氢氧化钠加入氨基乙酸溶液中调节 pH 值至 10.5，然后加入 2 克分子量为 5000 的 mPEG 甲磺酰酯（由上一步制得），此溶液在 37°C 下保温 72 小时，再用盐酸中和溶液至 pH 约为 7。用二氯甲烷萃取聚合物，有机相用无水硫酸钠干燥，真空蒸出溶剂。产率：1.7 克（85%）。熔点：55-57°C。NMR (DMSO): 3.5 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 3 个氢), 2.95 (t, 2 个氢), 3.11 (s, 2 个氢)。

### 实施例 4

#### 聚乙二醇单甲醚-丙氨酸 (4) 的合成

将 5 克分子量为 5000 的聚乙二醇单甲醚 (mPEG) 在 50 毫升甲苯中氮气保护下共沸蒸馏 2 小时，分出 10 毫升溶剂。然后冷却至室温，加入 3 毫升干燥的二氯甲烷和 0.08 毫升干燥的三乙胺。此混合

物在冰水浴中冷却，并滴加 0.12 毫升干燥的甲基磺酰氯。此混合物在室温氮气保护下搅拌过夜，然后加入 2 毫升无水乙醇使反应骤停，旋转蒸发浓缩溶剂，过滤收集沉淀物，再加 150 毫升乙醚，过滤收集沉淀物并真空干燥。产率：4.5 克（90%）。NMR (DMSO): 3.50 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 3 个氢), 4.32 (t, 2 个氢)。

将 2 克氨基丙酸盐溶于 20 毫升去离子水中，加入 1 克氢氧化钠至氨基丙酸的溶液中，使 PH 值约为 10.5，然后加入 2 克分子量为 5000 的聚乙二醇单甲醚甲磺酰酯，此溶液在 37°C 下保温 72 小时，再用盐酸中和至 pH 约为 7。用二氯甲烷萃取聚合物，有机相用无水硫酸钠干燥，真空蒸出溶剂。产率：1.9 克（94%）。熔点：55-57°C。NMR(DMSO): 3.50 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 3 个氢), 2.94 (M, 1 个氢), 1.24(d, 3 个氢)。

### 实施例 5

#### 对氨基具有活性的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物 (5) 的合成

其合成路线如图 3 所示。将 1 克分子量为 5000 的聚乙二醇单甲醚-氨基乙酸或聚乙二醇单甲醚-氨基丙酸（分别由实施例 3 和实施例 4 制得）溶于 20 毫升二氯甲烷，再向溶液中加入 1 克分子量为 5000 的聚乙二醇单甲醚-羧乙酸丁二酰亚胺酯（mPEG-O-CH<sub>2</sub>-CO-NHS）和 0.1 毫升三乙胺，搅拌过夜，真空蒸出溶剂，残余物加入乙醚中。过滤收集沉淀，真空干燥，Y 形分支的 PEG 酸性产物可进一步用离子交换色谱柱纯化。产率：0.98 克（50%）。

0.5 克 Y 形分支的 mPEG 酸溶于 10 毫升二氯甲烷，向溶液中加入 7 毫克 N-羟基丁二酰亚胺（NHS）和 13 毫克二环己基碳二亚胺（DCC），室温下搅拌 6 小时，真空蒸出溶剂，剩余物加入 20 毫升异丙醇（IPA）中，过滤收集沉淀并在真空中干燥。产率：0.48 克（96%）。NMR(DMSO): 3.50 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 6 个

氢), 2.81 (s, 4 个氢), 4.15 (s, 2 个氢), 4.07 (t, 2 个氢), 4.48 (t, 2 个氢)。

### 实施例 6

#### 对氨基具有活性的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物 (6) 的合成

其合成路如图 4 所示。将 1 克分子量为 5000 的聚乙二醇单甲醚一氨基乙酸或聚乙二醇单甲醚一氨基丙酸 (分别由实施例 3 和实施例 4 制得) 溶于 20 毫升二氯甲烷, 再向溶液中加入 1 克分子量为 5000 的聚乙二醇单甲醚-羧甲酸丁二酰亚胺酯 (mPEG-O-CO-NHS) 和 0.1 毫升三乙胺, 搅拌过夜, 真空蒸出溶剂, 残余物加入乙醚中。过滤收集沉淀, 真空干燥, Y 形分支的 PEG 酸性产物可进一步用离子交换色谱柱纯化。产率: 0.98 克 (50%)。

0.5 克 Y 形分支的 mPEG 酸溶于 10 毫升二氯甲烷, 向溶液中加入 7 毫克 N-羟基丁二酰亚胺 和 13 毫克二环己基碳二亚胺, 室温下搅拌 6 小时, 真空蒸出溶剂, 剩余物加入 20 毫升异丙醇 中, 过滤收集沉淀并在真空中干燥。产率: 0.48 克 (96%)。NMR(DMSO): 3.50 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 6 个氢), 2.81 (s, 4 个氢), 4.15 (s, 2 个氢), 4.07 (t, 2 个氢)。

### 实施例 7

#### 对硫羟基具有活性的 Y 形分支的 PEG 衍生物 (7) 的合成

其合成路线见图 2 所示。将 1 克分子量为 10000 的 Y 形分支聚乙二醇 ((mPEG)<sub>2</sub>-NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH) (实施例 2 中制得的) 在氮气氛下与甲苯共沸蒸馏两小时, 然后降至室温。向其中加入 3 毫升干燥的二氯甲烷和 0.08 毫升的三乙胺。混合物在冰水浴中冷却并逐滴加入干燥的甲磺酰氯, 在氮气氛中室温搅拌过夜。然后加入 3 毫升无水乙醇使反应骤停。溶剂用旋转蒸发浓缩, 过滤出沉淀物, 再加入

150 毫升乙醚，过滤收集沉淀物并真空干燥。产率：0.8 克（80%）。

将 1 克分子量为 10000 的 Y 形分支的聚乙二醇一甲磺酰酯  $((\text{mPEG})_2-\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OMs})$  溶于 30 毫升含 5% 氯化铵的氨水溶液中。溶液在室温下搅拌 72 小时，溶液再用二氯甲烷萃取三次，合并有机相并用无水硫酸钠干燥。真空蒸出溶剂，残余物加入 50 毫升异丙醇中，收集沉淀并真空干燥。产率：0.7 克（70%）。

将 0.5 克 Y 形分支的 PEG 胺  $((\text{mPEG})_2-\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)$  溶于乙腈中，向溶液中加入 20 毫克马来酰亚胺丙酸-N-丁二酰亚胺酯。溶液在室温搅拌下过夜。真空蒸出溶剂，剩余物加入 30 毫升异丙醇中，收集沉淀并真空干燥。产率：0.42 克（84%）。NMR(DMSO)：3.50 (br m, PEG 中的氢), 3.24 (s, 6 个氢), 3.05 (t, 2 个氢), 2.56 (t, 2 个氢), 6.71 (s, 马来酰亚胺中的 2 个氢)。

## 实施例 8

### Y 形分支的聚乙二醇-NHS 衍生物与 $\alpha$ -干扰素的结合物

其合成路线如图 7 所示。Y 形分支的聚乙二醇丁二酰亚胺碳酸酯 75 毫克（实施例 2 或实施例 5、6 制得的）溶于 5 毫升加有缓冲液的  $\alpha$ -干扰素溶液中（pH 7.4），干扰素的浓度为 5 毫克/毫升，反应液中 PEG 与  $\alpha$ -干扰素的比例为 3:1，溶液在 4°C 下缓缓震荡 1 小时，再在室温下摇晃 5 小时，将溶液稀释至干扰素浓度为 0.5 毫克/毫升，再用高效液相色谱凝胶柱纯化，得到单一取代的 Y 形分支的聚乙二醇与  $\alpha$ -干扰素的结合物。SDS-PAGE 显示产物不含游离的  $\alpha$ -干扰素。

SDS-PAGE 分析：反应混合物和纯化后的 PEG-IFN 用十二烷基硫酸钠/聚丙烯酰胺（8-16%）凝胶电泳处理并用 Coomassie 兰染料对蛋白质着色，在 PEG-IFN 结合物中的 PEG 部分专门用 titrisol 碘溶液着色。SDS-PAGE 凝胶用蒸馏水漂洗后置于 5% 的氯化钡溶液

中, 10 分钟后凝胶用蒸馏水洗涤, 然后置于 0.1 N titrisol 碘溶液中 10 分钟, 用蒸馏水将 titrisol 洗出, 含有 Y-PEG-IFN 样品的凝胶用热封带保存在蒸馏水中。

### 实施例 9

#### Y 形分支的 PEG-NHS 衍生物与 $\beta$ -干扰素的结合物

Y 形分支的聚乙二醇丁二酰亚胺碳酸酯 (实施例 5、6 制得的) 溶于 5 毫升加有缓冲液的  $\beta$ -干扰素溶液中 (pH 7.4)。干扰素的浓度为 1 毫克/毫升, 反应液中聚乙二醇与  $\beta$ -干扰素的比例为 3: 1。溶液轻轻震荡 7 小时, 然后用高效液相色谱凝胶柱纯化, 得到单一取代的 Y 形分支聚乙二醇与  $\beta$ -干扰素的结合物, SDS-PAGE 和 CE 显示产物不含有游离的  $\beta$ -干扰素。

### 实施例 10

#### Y 形分支的聚乙二醇衍生物与紫杉醇的结合物

其合成路线如图 5 所示。将 1 克 Y 形分支的聚乙二醇羧酸 (实施例 5、6 中制得的) 溶在 10 毫升二氯甲烷中, 再加入 90 毫克的紫杉醇、8 毫克的二甲基氨基吡啶和 25 毫克的二环己基碳二亚胺。此溶液在室温下搅拌 6 小时, 真空蒸出溶剂, 剩余物加入 20 毫升异丙醇中, 过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后真空干燥。产率: 0.8 克 (80%), 熔点: 55—57°C。

### 实施例 11

#### Y 形分支的 PEG 衍生物与喜树碱结合物的结合物

其合成路线如图 6 所示。将 1 克 Y 形分支的聚乙二醇羧酸 (实施例 5、6 中制得的) 溶在 10 毫升二氯甲烷中, 再加入 0.12 克喜树碱甘氨酸酯, 50 毫克的二甲基氨基吡啶和 95 毫克的二环己基碳二亚

胺。此溶液在室温下搅拌 6 小时，真空蒸出溶剂，残余物添加 20 毫升 1, 4-二氧六环溶解。过滤除去沉淀，溶液浓缩，剩余物加入 20 毫升乙醚中，过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后真空干燥。产率: 0.8 克 (80%)，熔点: 56—58℃。

### 实施例 12

#### Y 形分支的 PEG 衍生物与华蟾酥毒基的结合物

其合成路线如图 5 所示。将 1 克 Y 形分支的聚乙二醇羧酸（实施例 5、6 中制得的）溶在 10 毫升二氯甲烷中，再加入 60 毫克的华蟾酥毒基，12 毫克的 1-羟基苯并三氮唑、16 毫克的二甲基氨基吡啶和 40 毫克的二环己基碳二亚胺。此溶液在室温下搅拌 6 小时，真空蒸出溶剂，剩余物加入 20 毫升异丙醇中，过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后真空干燥。产率: 0.75 克 (75%)，熔点: 57—59℃。

### 实施例 13

#### Y 形分支的聚乙二醇衍生物与东莨菪内酯的结合物

其合成路线如图 5 所示。将 1 克 Y 形分支的聚乙二醇羧酸（实施例 5、6 中制得的）溶在 20 毫升二氯甲烷中，再加入 30 毫克的东莨菪内酯，20 毫克的 1-羟基苯并三氮唑、20 毫克的二甲基氨基吡啶和 38 毫克的二环己基碳二亚胺。此溶液在室温下氮气保护搅拌 12 小时，真空浓缩溶剂，剩余物加入 20 毫升 1, 4-二氧六环中，过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后抽干。溶液减压蒸除，残余物添加 100 毫升异丙醇。过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后抽干。合并沉淀物，真空干燥。产率: 0.92 克 (92%)，熔点: 56—58℃。

### 实施例 14

#### Y 形分支的聚乙二醇衍生物与甘草次酸的结合物

其合成路线如图 6 所示。将 1 克 Y 形分支的聚乙二醇羧酸（实施例 5、6 中制得的）溶在 10 毫升二氯甲烷中，溶液中滴加 0.2 毫升二硫酰氯，溶液搅拌 2 小时。减压蒸馏除去溶剂和低沸点杂质。再加入含 70 毫克甘草次酸的二氯甲烷溶液 10 毫升，搅拌溶解。再添加 60 毫克的二甲基氨基吡啶。此溶液在室温下氮气保护搅拌 12 小时，真空浓缩溶剂，剩余物加入 20 毫升异丙醇。过滤收集沉淀再用乙醚洗涤后抽干，真空干燥。产率：0.6 克（60%），熔点：58—60℃。

### 实施例 15

本实施例说明代表性非胃肠道给药的药物组合物的制备过程，所述组合物包含本发明的结合物。

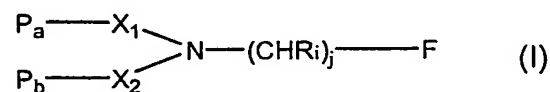
#### 成分

实施例 8 的结合物	2 克
0.9% 盐水溶液	至 100 毫升

将实施例 8 的结合物 2 克溶解于 0.9% 盐水溶液，得到 100 毫升的静脉注射用溶液，将其通过 0.2 $\mu$ m 的膜过滤材料过滤，在无菌条件下分装。冷冻干燥得到注射用粉针剂。

## 权 利 要 求

1、一种由以下式 I 表示的 Y 形分支的亲水性聚合物衍生物:



其中:

$P_a$  和  $P_b$  是相同或不同的亲水性聚合物;

$j$  为 1-12 的整数;

$R_i$  为 H、 $C_{1-12}$  经取代或未经取代的烷基、取代芳基、芳烷基、或杂烷基;

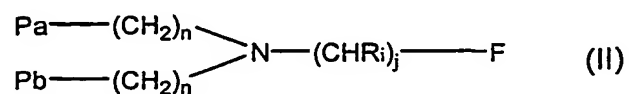
$X_1$  和  $X_2$  分别独立地是连接基团, 其中  $X_1$  为  $(CH_2)_n$ ,  $X_2$  为选自于以下组中的基团:  $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_nOCO$ 、 $(CH_2)_nNHCO$ 、 $(CH_2)_nCO$ , 而  $n$  为 1-10 的整数;

$F$  是选自于以下组中的端基: 羟基、羧基、酯基、酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物, 可以与治疗药物或基体上的氨基、羟基或硫羟基反应形成共价键。

2、如权利要求 1 所述的衍生物, 其中, 所述亲水性聚合物选自于聚乙二醇、聚丙二醇、聚乙烯醇、聚丙烯吗啉以及它们的共聚物。

3、如权利要求 2 所述的衍生物, 其中, 所述亲水性聚合物是聚乙二醇。

4、一种由以下式 II 表示的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物:



其中:

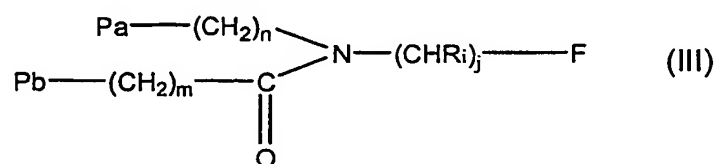
$P_a$  和  $P_b$  是相同或不同的聚乙二醇;

$n$  和  $j$  为 1-12 的整数;

$R_i$  为  $H$ 、 $C_{1-12}$  经取代或未经取代的烷基、取代芳基、芳烷基、或杂烷基;

$F$  是选自于以下组中的端基: 羟基、羧基、酯基、酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物, 可以与治疗药物或基体上的氨基、羟基或硫羟基反应形成共价键。

5、一种由以下式 III 表示的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物:



其中:

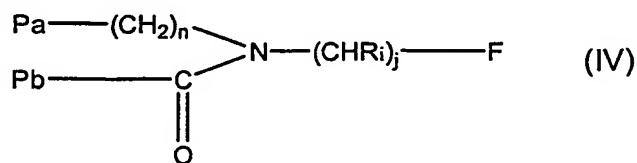
$P_a$  和  $P_b$  是相同或不同的聚乙二醇;

$n$ 、 $m$  和  $j$  为 1-12 的整数;

$R_i$  为  $H$ 、 $C_{1-12}$  经取代或未经取代的烷基、取代芳基、芳烷基、或杂烷基;

$F$  是选自于以下组中的端基: 羟基、羧基、酯基、酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物, 可以与治疗药物或基体上的氨基、羟基或硫羟基反应形成共价键。

6、一种由以下式 IV 表示的 Y 形分支的聚乙二醇衍生物:



其中:

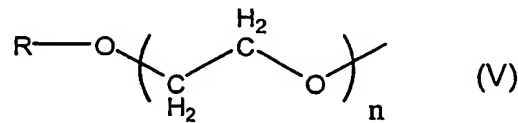
$P_a$  和  $P_b$  是相同或不同的聚乙二醇;

$n$  和  $j$  为 1-12 的整数;

$R_i$  为 H、 $C_{1-12}$  经取代或未经取代的烷基、取代芳基、芳烷基、或杂烷基；

F 是选自于以下组中的端基：羟基、羧基、酯基、酰氯、酰肼、马来酰亚胺、吡啶二硫化物，可以与治疗药物或基体上的氨基、羟基或硫羟基反应形成共价键。

7、如权利要求 1—6 之一所述的衍生物，其中  $P_a$  和  $P_b$  可相同或不同地为以下 V 所示的聚乙二醇：



其中：

R 为 H、 $C_{1-12}$  烷基、环烷基或芳烷基；

n 为任何整数，表征其聚合度。

8、如权利要求 7 所述的衍生物，其中，R 为氢、甲基、乙基、异丙基、环丙基、环丁基、环己基以及苄基。

9、如权利要求 7 所述的衍生物，其中，聚乙二醇的分子量为 300 到 60000。

10、一种制备如权利要求 4 所述的聚乙二醇衍生物的方法，其包括以下步骤：在  $0^\circ\text{C}$ 、催化剂作用下，用 2-苄氧基乙胺二乙醇引发环氧乙烷的聚合反应；进行端基烷基化、催化氢化脱苄；然后根据 F 进行端基改造。

11、一种制备如权利要求 5 或 6 所述的聚乙二醇衍生物的方法，其包括以下步骤：在碱性条件下，用聚乙二醇单甲醚-甲磺酰酯与氨

基酸反应，产物与另一个聚乙二醇单甲醚衍生物进一步反应，然后再根据 F 基团的类型进行端基改造。

12、如权利要求 11 所述的方法，其中所述另一个聚乙二醇单甲醚衍生物是聚乙二醇单甲醚-羧乙酸丁二酰亚胺酯。

13、如权利要求 1—9 之一所述的衍生物通过其端基 F 与药物分子所形成的结合物。

14、如权利要求 1—9 之一所述的衍生物通过其端基 F 与其它聚合物所形成的共聚物。

15、如权利要求 13 所述的结合物，其中，药物部分选自于以下类别中的一种：氨基酸、蛋白质、酶、核苷、糖类、有机酸、甙类、黄酮类、醌类、萜类、苯丙素酚类、甾体及其甙类、生物碱。

16、如权利要求 13 所述的结合物，其中，药物部分是天然药物活性成分。

17、如权利要求 16 所述的结合物，其中，天然活性成分是华蟾酥毒基、甘草次酸或东莨菪内酯。

18、如权利要求 13 所述的结合物，其中，所述药物部分是抗肿瘤剂免疫抑制剂。

19、如权利要求 18 所述的结合物，其中，所述抗肿瘤剂免疫抑制剂选自于紫杉醇、喜树碱、干扰素以及它们的衍生物。

20、如权利要求 19 所述的结合物，其中，干扰素是  $\alpha$  -、 $\beta$  -或  $\gamma$  -干扰素。

21、一种药物组合物，其包含如权利要求 13—20 之一所述的结合物以及任选的药物学上可接受的赋形剂和载体。

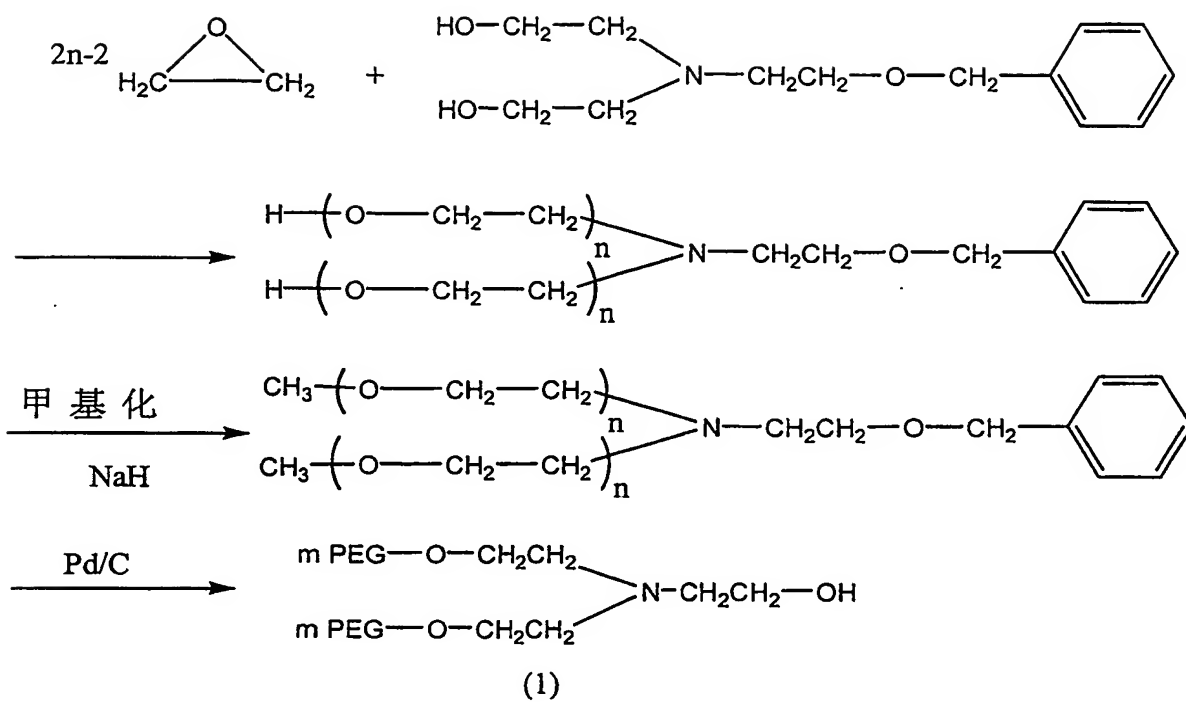


图 1

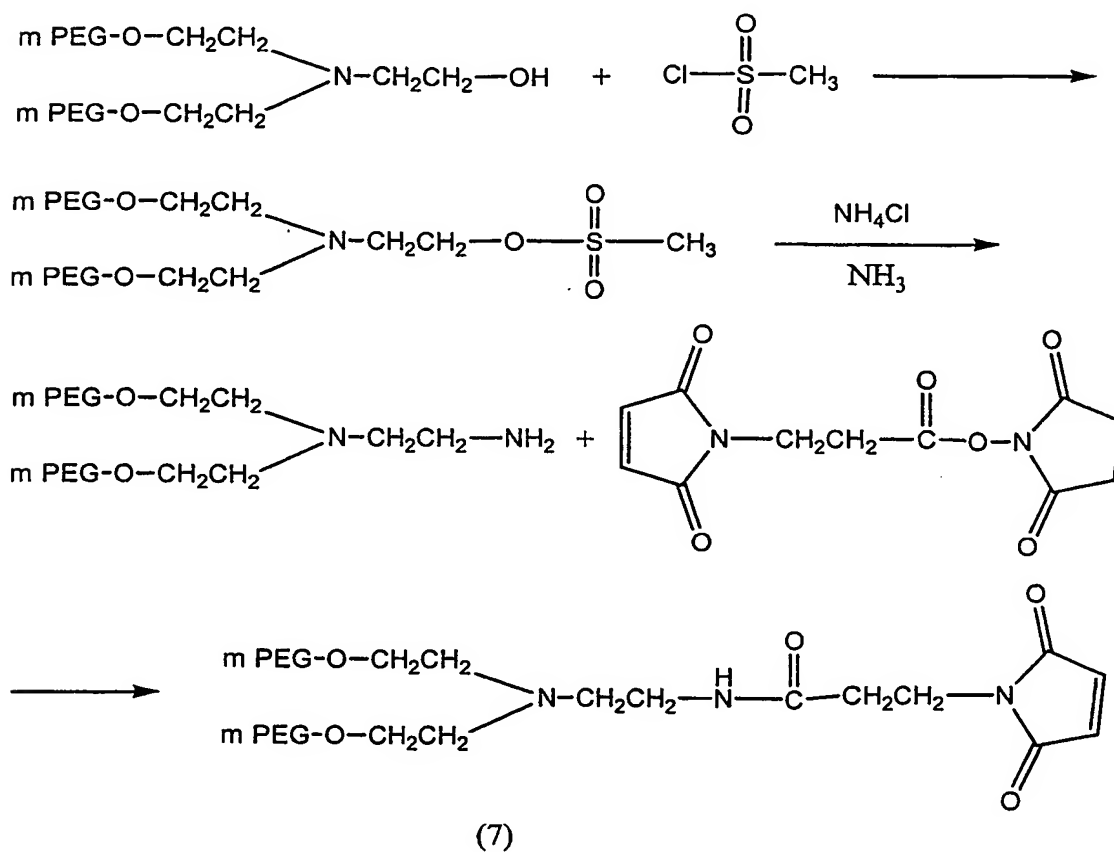
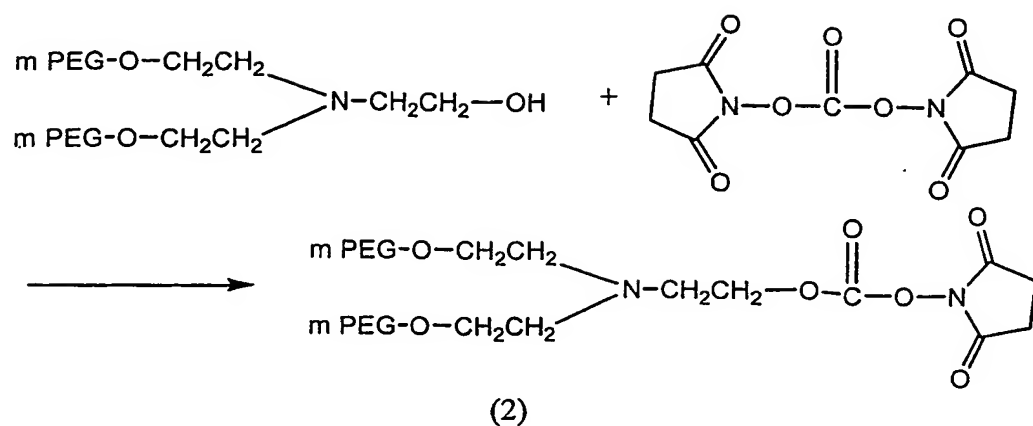


图 2

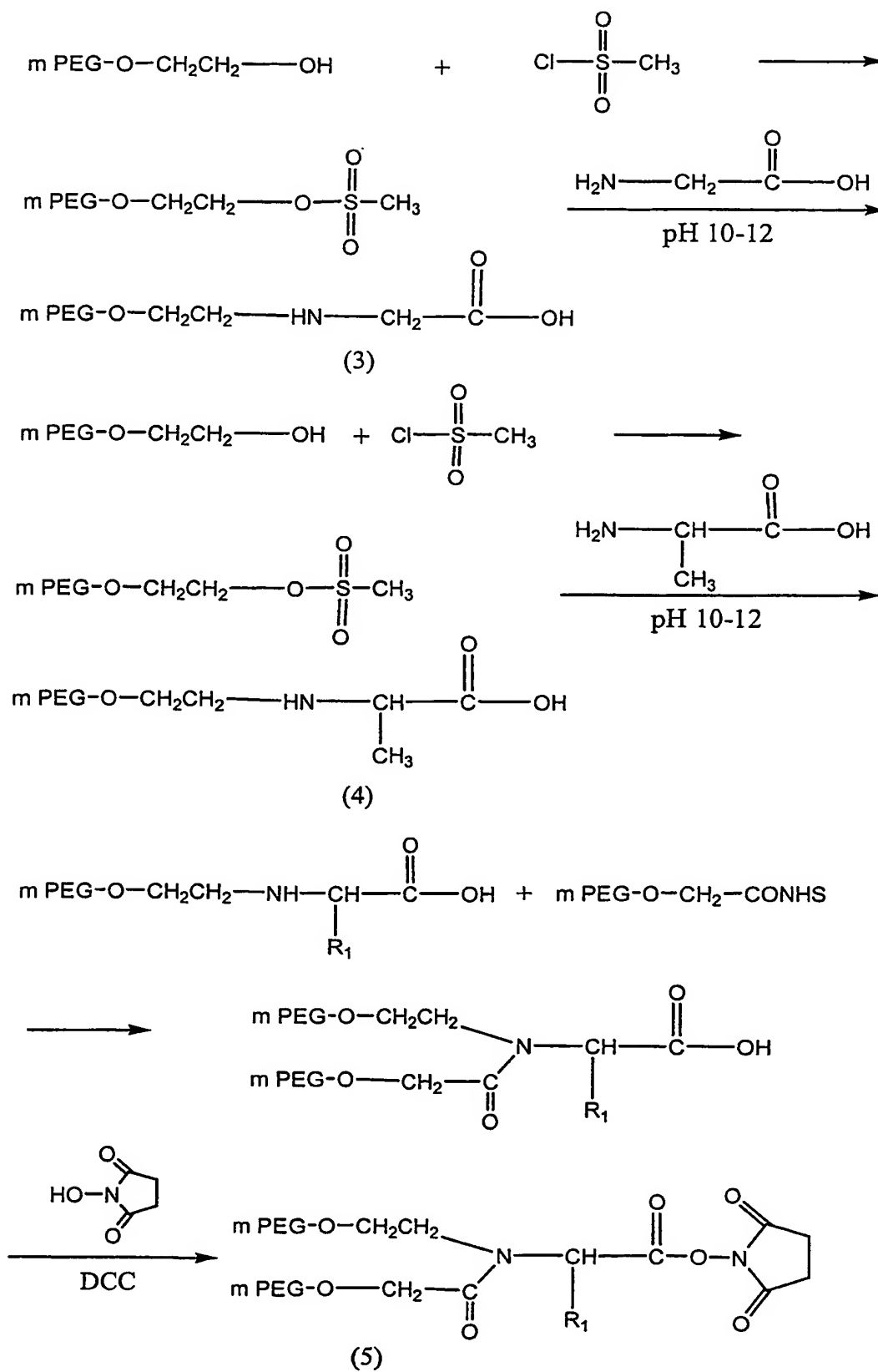
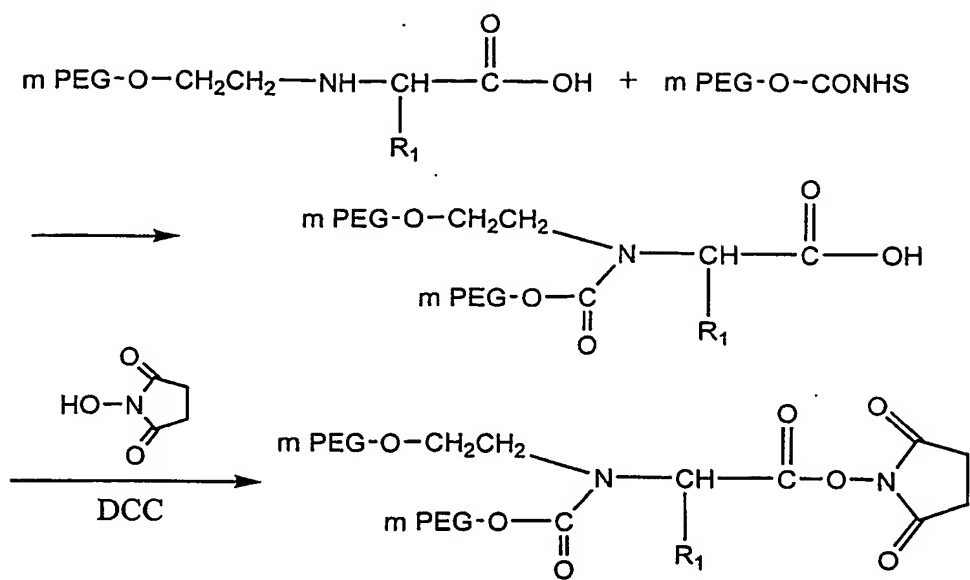


图 3



(6)

图 4

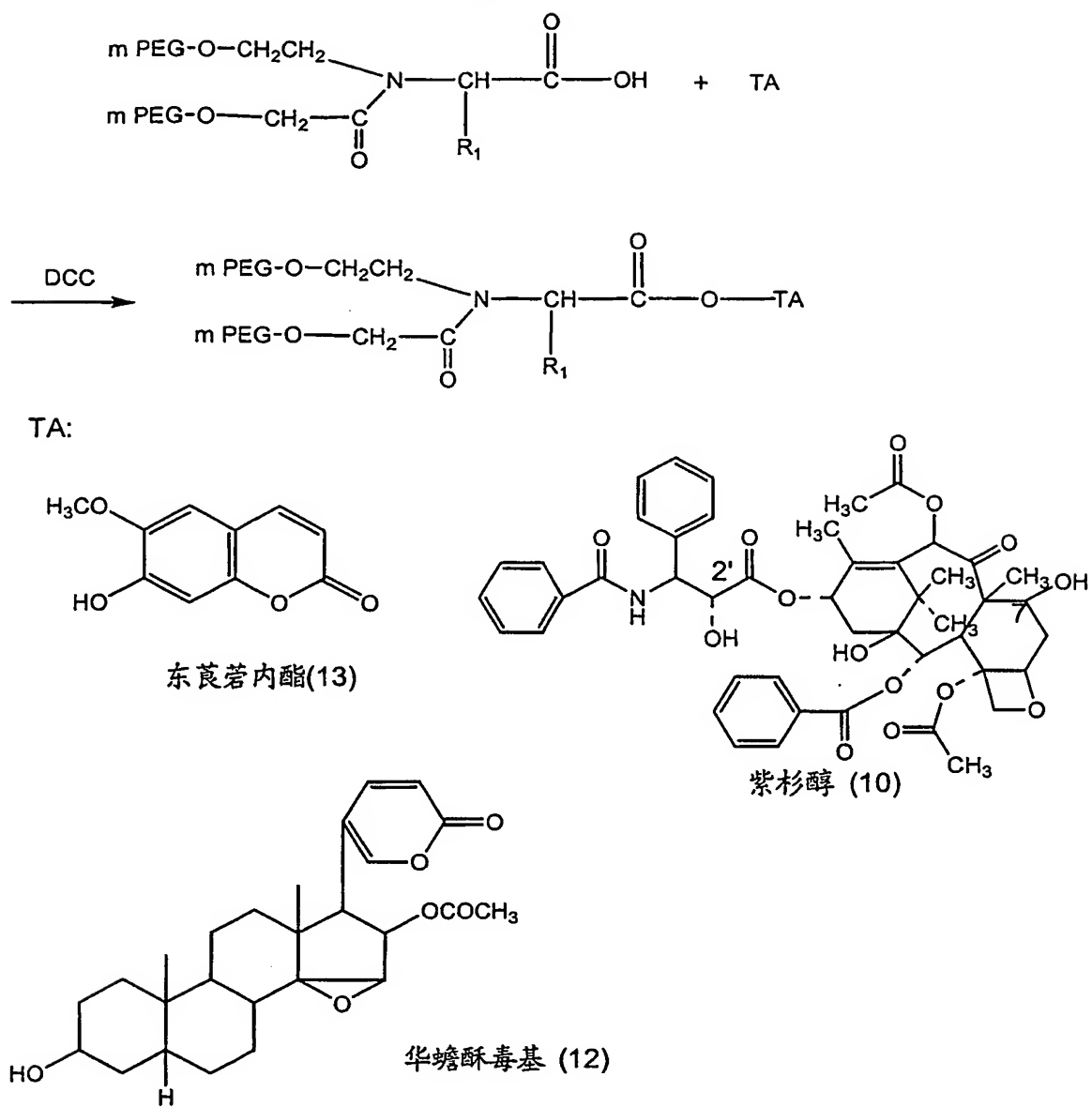


图 5

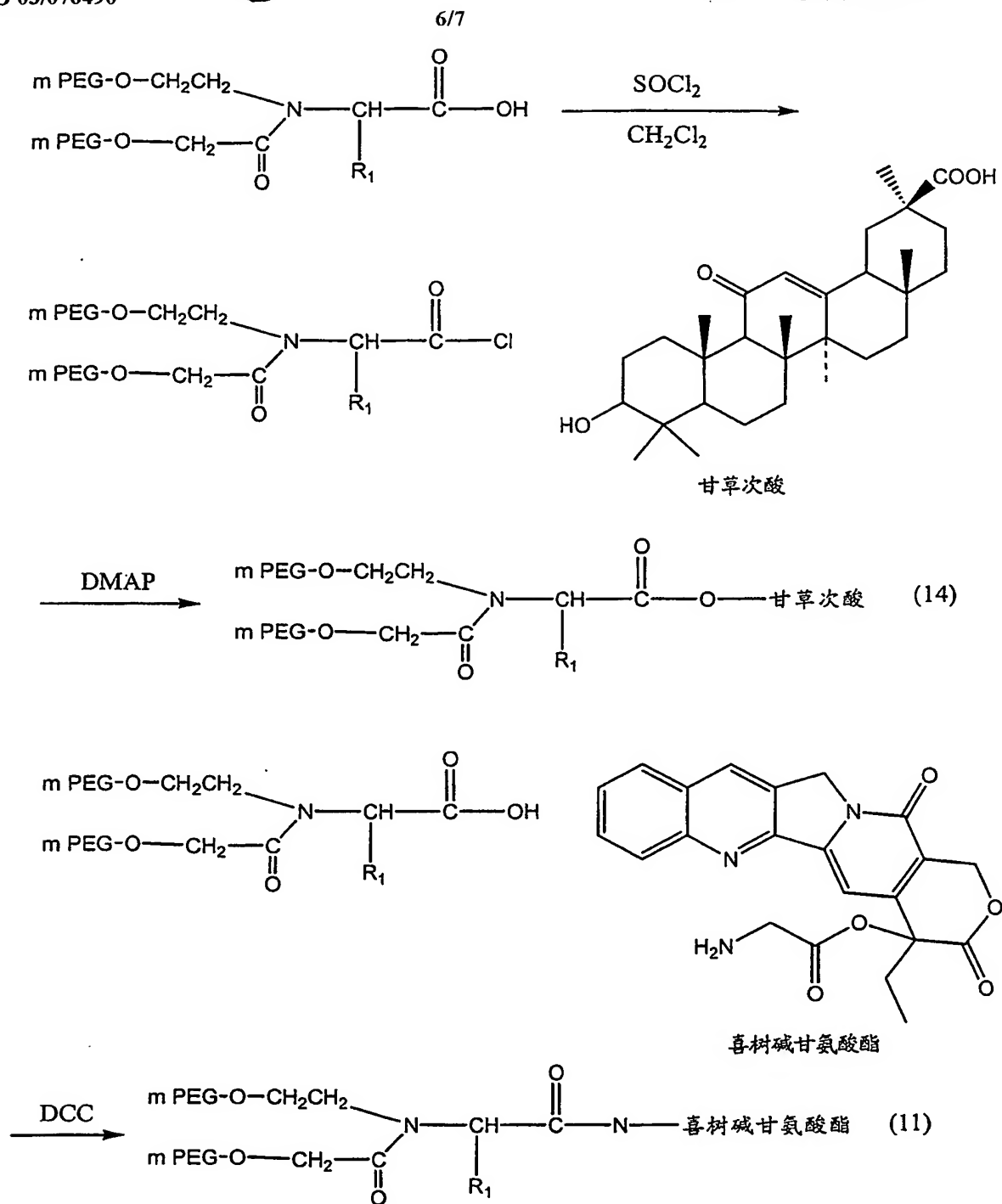


图 6

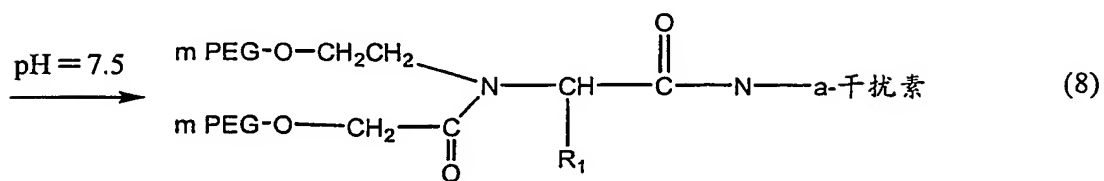
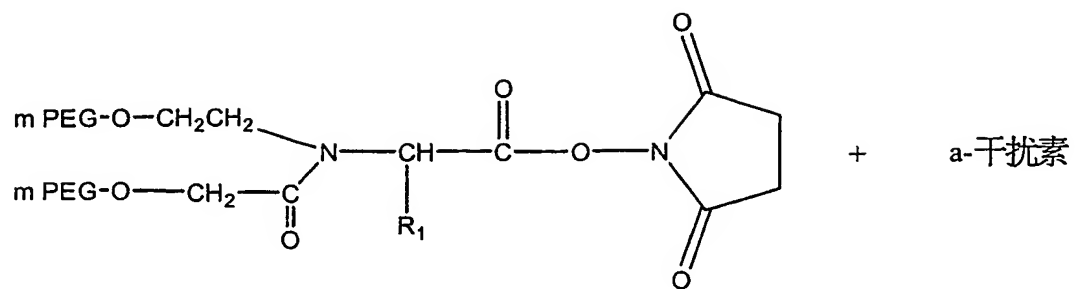


图 7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN03/00179

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7 C08G65/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC C08G,C08H,C08B,C08F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP0505163A1(NALCO CHEMICAL COMPANY) 23.Sept.1992(23.09.1992), Page2—7	1-21
A	EP0411461A1 (NISSHINBO INDUSTRIES,INC) 2.Jun.1991(02.06.1991), Page 2—11	1-21
A	GB2125806A (THE BOOTS COMPANY PLC) 14.Mar.1984(14.03.1984), Page 2—9	1-21
A	GB1313313A (HOECHST AG ) 11.Apr.1973(11.04.1973), Page 1—4	1-21
A	US5349001A(ENZON INC) 20.Sept.1994(20.09.1994)column 2 line 5—column 8 line 60	1-21

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
24.Mar.2003(24.03.2003)

Date of mailing of the international search report

19 JUN 2003 (19.06.03)

Name and mailing address of the ISA/CN  
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,  
100088 Beijing, China  
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

Telephone No. 86-10-62093079



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN03/00179

Patent document cited in research report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP0505163A1	23.09.1992	JP5078412A	30.03.1993
		DE69212025D	14.08.1996
		JP11071424A	16.03.1999
		JP2001200011A	24.07.2001
EP0411461A1	02.06.1991	JP3062814A	18.03.1991
		US5100994A	31.03.1992
		DE69023067D	23.11.1995
GB2125806A	14.03.1984	JP59020323A	02.02.1984
		WO8400552A	16.02.1984
		EP0102722A	14.03.1984
		BR8307417A	05.06.1984
		US4520145A	28.05.1985
		US4587281A	06.05.1986
		DE3366595D	06.11.1986
		IL69221A	31.03.1987
		BE756287A	17.03.1971
		NL7013394A	19.03.1971
		DE194655A	25.03.1971
		FR2062244A	25.06.1971
		CH1362270D	14.04.1972
		US3721700A	20.03.1973
GB1313313A	11.04.1973	GB1321658A	11.04.1973
		US3746742A	17.07.1973
		SU416961A	25.02.1974
		AT320586B	25.02.1975
		WO9417039A	04.08.1994
		CA2154170A	04.08.1994
		AU6089294A	15.08.1994
		US5349001A	20.09.1994
US5349001A	20.09.1994	US5405877A	11.04.1995
		EP0681572A	15.11.1995
		JP8506131T	02.07.1996
		DE69428189D	11.10.2001
		DK681572T	12.11.2001

## 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN03/00179

## A. 主题的分类

IPC7 C08G65/00

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域 IPC C08G,C08H,C08B,C08F

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

## C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	EP0505163A1(NALCO CHEMICAL COMPANY) 23.9 月 1992(23.09.1992), 说明书第 2—7 页	1-21
A	EP0411461A1 (NISSHINBO INDUSTRIES,INC) 2.6 月 1991(02.06.1991), 说明书第 2—11 页	1-21
A	GB2125806A (THE BOOTS COMPANY PLC) 14.3 月 1984(14.03.1984), 说明书第 2—9 页	1-21
A	GB1313313A (HOECHST AG ) 11.4 月 1973(11.04.1973), 说明书第 1—4 页	1-21
A	US5349001A(ENZON INC) 20.9 月 1994(20.09.1994)说明书第 2 栏 5 行—第 8 栏 60 行	1-21

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

## \* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

“L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理

“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性

“&amp;” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

24.3 月 2003(24.03.2003)

国际检索报告邮寄日期

19. 6 月 2003 (19. 06.03)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

受权官员

李丽

电话号码: 86-10-62093079



国际检索报告  
关于同族专利成员的情报

国际申请号  
PCT/CN03/00179

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
EP0505163A1	23.09.1992	JP5078412A	30.03.1993
		DE69212025D	14.08.1996
		JP11071424A	16.03.1999
		JP2001200011A	24.07.2001
EP0411461A1	02.06.1991	JP3062814A	18.03.1991
		US5100994A	31.03.1992
		DE69023067D	23.11.1995
GB2125806A	14.03.1984	JP59020323A	02.02.1984
		WO8400552A	16.02.1984
		EP0102722A	14.03.1984
		BR8307417A	05.06.1984
		US4520145A	28.05.1985
		US4587281A	06.05.1986
		DE3366595D	06.11.1986
		IL69221A	31.03.1987
GB1313313A	11.04.1973	BE756287A	17.03.1971
		NL7013394A	19.03.1971
		DE194655A	25.03.1971
		FR2062244A	25.06.1971
		CH1362270D	14.04.1972
		US3721700A	20.03.1973
		GB1321658A	11.04.1973
		US3746742A	17.07.1973
		SU416961A	25.02.1974
		AT320586B	25.02.1975
US5349001A	20.09.1994	WO9417039A	04.08.1994
		CA2154170A	04.08.1994
		AU6089294A	15.08.1994
		US5349001A	20.09.1994
		US5405877A	11.04.1995
		EP0681572A	15.11.1995
		JP8506131T	02.07.1996
		DE69428189D	11.10.2001
		DK681572T	12.11.2001